

Q 65: Laseranwendungen: Lebenswissenschaften

Zeit: Freitag 14:00–16:30

Raum: VMP 8 HS

Q 65.1 Fr 14:00 VMP 8 HS

Photo-dynamics of Roseoflavin in Aqueous and Organic Solvents — ●PEYMAN ZIRAK¹, ALFONS PENZKOFER¹, TILO MATHES², and PETER HEGEMAN² — ¹Institut II - Experimentelle und Angewandte Physik, Universität Regensburg, Universitätsstrasse 31, D-93053 Regensburg, Germany — ²Institut für Biologie /Experimentelle Biophysik, Humboldt Universität zu Berlin, Invalidenstrasse 42, D-10115 Berlin, Germany

Roseoflavin (8-dimethylamino-8-demethyl-D-riboflavin) in aqueous and organic solvents is studied by optical absorption spectroscopy, fluorescence spectroscopy, and fluorescence decay kinetics. A solvent polarity dependent absorption shift is observed. The fluorescence quantum yield is low and solvent dependent (e.g. 0.0005 in neutral water and 0.032 in benzene). The fluorescence decay shows a bi-exponential dependence (ps to sub-ps fast time constant, and 100 ps to a few ns slow time constant). The photo-dynamics is explained in terms of fast intra-molecular charge-transfer (diabatic electron transfer) from the dimethylamino electron donor group to the pteridin carbonyl electron acceptors followed by intra-molecular charge recombination. The fast fluorescence component is due to direct locally excited-state emission, and the slow fluorescence component is due to delayed locally excited state emission and charge transfer state emission.

Q 65.2 Fr 14:15 VMP 8 HS

Zweiphotonenmikroskopie und Second Harmonic Generation an quervernetzter Kaninchenaugenhornhaut — ●ALEXANDER KRÜGER¹, ABD ALKAWAS¹, MARINE HOVAKIMYAN², DIEGO RAMIREZ¹, OLIVER STACHS², MARIA KRÖGER², RUDOLF GUTHOFF² und ALEXANDER HEISTERKAMP¹ — ¹Laser Zentrum Hannover e.V., Germany — ²Universitätsaugenklinik Rostock, Germany

Bei der Augenkrankheit Keratokonus kommt es zu einer kegelförmigen Ausstülpung der Hornhaut (Kornea). Um die Kornea mechanisch zu stabilisieren und die Progression der Krankheit zu stoppen, wird als Behandlung eine Quervernetzung durch Riboflavin und UVA-Bestrahlung durchgeführt. Um die Auswirkung auf die Hornhaut ohne Anfängung studieren zu können, wurde ein spezielles Mehrphotonenmikroskop aufgebaut. Die dreidimensionale Bildgebung der Kornea basiert auf der Zweiphotonenanregung der Autofluoreszenz und der optisch nichtlinearen Erzeugung der zweiten Harmonischen (Second Harmonic Generation, SHG) mit einem Femtosekundenlaser. Die SHG-Detektion erfolgt in Vorwärts- und Rückwärtsrichtung. Erste Ergebnisse an zuvor quervernetzten Kaninchenaugen zeigen eine deutliche Autofluoreszenz des Epithelzellplasmas auf den ersten 50 μm Tiefe und ebenso des Keratozytenplasmas im darunter liegenden Stroma (bis 300 μm). Rückwärts- und Vorwärts-SHG unterscheiden sich insofern, als die hornhauttypischen gekreuzten Collagen-Lamellen nur in den Vorwärts-SHG-Signal nachweisbar sind. In quervernetzter Kornea zeigt sich eine verminderte Dichte und Form der Keratozyten.

Q 65.3 Fr 14:30 VMP 8 HS

Photodynamics of blue-light-regulated phosphodiesterase BlrP1 protein from *Klebsiella pneumoniae* — ●AMIT TYAGI¹, ALFONS PENZKOFER¹, JULIA GRIESE², ILME SCHLICHTING², NATALIA V. KIRIENKO³, and MARK GOMELSKY³ — ¹Institut II - Experimentelle und Angewandte Physik, Universität Regensburg, Universitätsstrasse 31, D-93053 Regensburg, Germany — ²Max-Planck-Institut für medizinische Forschung, Abteilung Biomolekulare Mechanismen, Jahnstrasse 29, D-69120 Heidelberg, Germany — ³Department of Molecular Biology, University of Wyoming, Laramie, Wyoming 82071, USA

The blue light-regulated phosphodiesterase BlrP1 protein from the enteric bacterium *Klebsiella pneumoniae* consists of a BLUF (sensor of blue light using FAD) and an EAL (E = Glu, A = Ala, L = Leu) domain. The full-length protein, BlrP1, and its BLUF domain, BlrP1-BLUF, are characterized by optical absorption and emission spectroscopy. The cofactor FAD in its oxidized redox state (FAD_{ox}) is brought from the dark-adapted receptor state to the 10 nm red-shifted putative signalling state by violet light exposure. The recovery to the receptor state occurs with a time constant of about 1 min. The quantum yield of signalling-state formation is about 0.17 for BlrP1-BLUF and about 0.08 for BlrP1. The fluorescence efficiency of the FAD_{ox} cofactor is small due to photo-induced reductive electron transfer. Prolonged light exposure converts FAD_{ox} in the signalling state to the

fully reduced hydroquinone form FAD_{red}H⁻ and causes low-efficient chromophore release with subsequent photo-degradation.

Q 65.4 Fr 14:45 VMP 8 HS

Entwicklung eines OCT-gestützten Endoskops zur kontaktfreien Untersuchung von Kehlkopfkrankungen — ●NADINE ROHRBECK¹, HENNING WISWEH¹, KATHRIN ALEXANDROV² und HOLGER LUBATSCHOWSKI¹ — ¹Laser Zentrum Hannover e.V., Hollerithallee 8, 30419 Hannover — ²Medizinische Hochschule Hannover, Carl-Neuberg-Str. 1, 30625 Hannover

Ein OCT-gestütztes Endoskop bietet eine Diagnosemöglichkeit zur Untersuchung von Kehlkopfkrankungen in Echtzeit, um Aussagen über oberflächennahe Tiefenstrukturen zu erhalten. Bisher gibt es kein routinemäßiges Verfahren zur Untersuchung der Tiefenstruktur der Stimmlippe. Die optische Kohärenztomographie (OCT) eignet sich als nichtinvasives optisches Bildgebungsverfahren für die Stimmlippendiagnostik, da es in vivo und in Echtzeit Schichtbilder innerhalb einer Tiefe von 1 mm mit Auflösungen im μm -Bereich liefert.

Das OCT-gestützte Endoskop vereint einen OCT-Strahlengang und eine Videobildgebung, so dass gleichzeitig Informationen der feingeweblichen Struktur der Stimmlippe auf der Schleimhautoberfläche sowie die Tiefenausdehnung der Gewebeschichten dargestellt werden können. Eine elektromechanische Fokussiereinheit ermöglicht einen flexiblen Arbeitsabstand für das Endoskop, so wird der Strahlengang individuell an die Anatomie des Patienten angepasst. Da Bewegungen während der medizinischen Untersuchung mit Hilfe von OCT Bewegungsartefakte hervorrufen, wurden verschiedene OCT-Messmethoden untersucht, um die Auswirkungen auf die Bildqualität zu beurteilen.

Q 65.5 Fr 15:00 VMP 8 HS

Optische Kohärenztomographie (OCT) als Bildgebungssystem für die Femtosekunden-Laserapplikation — ●MARKO HEIDRICH, OLE MASSOW und HOLGER LUBATSCHOWSKI — Laser Zentrum Hannover e.V., Hollerithallee 8, 30419 Hannover, Germany

Das Konzept des sehenden Skalpells beruht auf der Vereinigung der nichtinvasiven optischen 3D-Bildgebung eines OCT-Systems mit der berührungslosen Bearbeitung von Proben mit einem Femtosekunden-Laser. Ziel hierbei ist die räumliche Darstellung von Proben, mit deren Hilfe die Schnittkontur definiert werden kann. Das Schneiden basierend auf Ultrakurzpulslasern bietet die Möglichkeit aufgrund der nichtlinearen Wechselwirkung in Gewebe (Photodisruption) unterhalb der Oberfläche mit einer Präzision von wenigen μm Material zu trennen. Die Kombination aus OCT mit einem Auflösungsvermögen im μm -Bereich und Laser-Schneiden ermöglicht es ohne den bisherigen Gerätewechsel und damit ohne Verlust der Präzision relativ zu in der Probe befindlichen Strukturen zu schneiden und mit Hilfe derselben Optiken die Probe zu untersuchen.

Das sehende Skalpell besteht aus einem 3D Fourier Domain OCT-System in dessen Strahlengang ein Ultrakurzpulslaser eingekoppelt wird, so dass die Probe alternierend mit dem OCT-System begutachtet und mit dem fs-Laser bearbeitet werden kann. In diesem Vortrag soll der Aufbau des auf das sehende Skalpell angepassten OCT-Systems und die Charakterisierung der Systemeigenschaften vorgestellt werden.

Q 65.6 Fr 15:15 VMP 8 HS

Real time en face Fourier-domain optical coherence tomography with direct hardware frequency demodulation — BENJAMIN BIEDERMANN, ●WOLFGANG WIESER, CHRISTOPH EIGENWILLIG, and GESA PALTE — Ludwig-Maximilians-Universität, München, Deutschland

Optical coherence tomography (OCT) is a novel method for 3d imaging of biomedical tissue. Recently, the introduction of rapidly wavelength swept Fourier-domain mode locked (FDML) lasers enabled dramatically increased imaging speeds allowing complete 3d data sets to be acquired in a second.

In contrast to the slower time-domain OCT, the extraction of en-face projections in fast swept-source OCT systems (ss-OCT) typically involves complex post-processing: data resampling, numerical spectral shaping, Fourier transformation and summation over parts of each depth scan.

This talk presents a novel **cost-effective real-time en-face imaging technique** using ss-OCT but **without any of the mentioned**

computation steps: A k -space linear FDML laser combined with an adaptive feedback loop provides a spectrally-shaped swept laser source. Hardware-demodulation extracts the signal corresponding to a certain depth in the tissue.

Q 65.7 Fr 15:30 VMP 8 HS

^{13}CO Echtzeitanalyse mittels Cavity Leak-Out Spektroskopie im mittleren Infrarot — ●MARCUS SOWA, THOMAS FRITSCH, PETER HERING und MANFRED MÜRTZ — Institut für Lasermedizin, Universitätsklinikum Düsseldorf, Universitätsstr. 1, 40225 Düsseldorf

^{13}CO ist ein nichtradioaktives Isotopolog und macht etwa 1,1% der natürlichen CO Zusammensetzung aus. CO entsteht im Körper beim Abbau von roten Blutkörperchen und kommt in der Ausatemluft in Konzentrationen weniger ppm vor. Eine isotopologenselektive ^{13}CO -Analyse der Atemluft erlaubt so beispielsweise die CO-Aufnahme des Körpers zu untersuchen und dabei CO-Konzentrationen bzw. CO-Mengen zu verwenden, die unterhalb der zulässigen Höchstwerte liegen. Die Cavity Leak-Out Spektroskopie bietet die Möglichkeit zur isotopologenselektiven Analyse. Das eingesetzte System ermöglicht sowohl eine atemzugsaufgelöste ^{13}CO -Detektion aus der Atemluft als auch die Analyse aus biologischen Proben unter Verwendung eines CO-Gaslasers im mittleren Infrarot (ca. $5\mu\text{m}$) bei einer Nachweisgrenze von $0,7\text{ppb}\cdot\text{Hz}^{-1/2}$. Mit Hilfe der ^{13}CO -Atemanalyse, in Kombination mit weiteren spirometrischen Daten, wird der Zusammenhang zwischen dem exhalieren ^{13}CO und der Carboxyhämoglobinkonzentration (Hb^{13}CO) im Blut untersucht. Daraus folgend soll eine Methode zur minimalinvasiven Bestimmung der Hämoglobingehamtsmenge entwickelt werden, mit deren Hilfe u.a. Blutdopingsünder entlarvt werden könnten. Im Rahmen des Vortrags sollen das Messsystem und erste Ergebnisse präsentiert werden.

Q 65.8 Fr 15:45 VMP 8 HS

Kurzpuls-laser basierte Transfektion von Suspensionszellen — ●MANUEL BECKSCHEBE¹, JUDITH BAUMGART¹, HEIKO MEYER¹, HUGO MURUA ESCOBAR², ANACLET NGEZAHAYO³, HOLGER LUBATSCHOWSKI¹ und ALEXANDER HEISTERKAMP¹ — ¹Laser Zentrum Hannover e.V., Hollerithallee 8, Hannover — ²Kleintierklinik, Tierärztliche Hochschule, Bischofsholer Damm 15, Hannover — ³Institut für Biophysik, Leibniz Universität, Herrenhäuserstr. 2, Hannover

Das Einbringen von DNA in eukaryotische Zellen wird als Transfektion bezeichnet. Für ein kurzzeitiges Öffnen der Zellmembran werden kurze Pulse im nahinfraroten Wellenlängenbereich stark auf die Membran fokussiert. Die DNA kann somit in die Zelle hinein diffundieren. Dieses Verfahren hat sich bereits als besonders schonend und effektiv herausgestellt und ist u.a. für Primär- und Stammzellen sehr gut geeignet. Für diese Methode muss allerdings jede Zelle einzeln anvisiert und manipuliert werden, so dass die Transfektion einer hinreichend großen Zellpopulation sehr zeitaufwendig ist.

Wir präsentieren einen Ansatz, um Zellen in Suspension automatisch mittels optischer Pinzette relativ zum Fokus des Kurzpuls-lasers zu positionieren. Dazu werden sie in einem Mikrofluidikkanal in einem Linienfokus der optischen Pinzette aufgereiht. Somit werden die Suspensionszellen im Vorbeifließen am Fokus des Kurzpuls-lasers transfiziert. Durch eine geeignete Kanalgeometrie können zusätzlich die transfizierten Zellen von unbehandelten getrennt werden, so dass der Anteil der

erfolgreich transfizierten Zellen in dem sortierten Volumen maximiert wird.

Q 65.9 Fr 16:00 VMP 8 HS

Plasmonen basierte Lasertransfektion — ●HOLGER FEHLAUER, MARKUS SCHOMAKER, HOLGER LUBATSCHOWSKI und ALEXANDER HEISTERKAMP — Laser Zentrum Hannover e.V., Hollerithallee 8, 30419 Hannover

Eine zentrale Anwendung der Molekularbiologie ist das Einbringen von Fremd-DNA in Zellen. Eine Alternative zu den konventionellen Methoden der Zellpermeabilisierung ist die Lasertransfektion durch Plasmonen. Plasmonen entstehen durch Absorption von resonantem Laserlicht an Nanopartikeln oder Nanopartikeloberflächen. Die Plasmonen basierte Lasertransfektion bietet die Möglichkeit eines hohen Durchsatzes, da, durch eine schwache Laserfokussierung, eine große Fläche und damit viele Zellen bestrahlt werden. Durch das Verwenden von biokompatiblen Goldnanopartikeln (GNP) und einer geringen Laserleistung wird eine schädigungsarme Transfektion erreicht.

Für die Transfektion werden Zellen mit GNP inkubiert, welche durch einen Fs Laser angeregt werden. Daraufhin können große Moleküle, wie DNA, in die Zellen eindringen. Um die Transfektionseffizienz zu prüfen, wird Fremd-DNA eingebracht, welche zur Synthetisierung des Green-Fluorescence-Proteins in den Zellen führt und 24 Stunden nach Einbringen über Fluoreszenz nachgewiesen wird.

In den durchgeführten Versuchen wird der Einfluss verschiedener Faktoren auf die Transfektionsrate untersucht, um optimale Transfektionsparameter zu evaluieren. Diese Faktoren sind Größe und Konzentration der GNPs, sowie Wellenlänge und Energie des Laserlichtes.

Q 65.10 Fr 16:15 VMP 8 HS

Optisches Sortieren von Primärzellen in einem Mikrofluidik-Chip — ●CHRISTINA KRÄMER¹, HEIKO MEYER¹, JUDITH BAUMGART¹, RAOUL LORBEER¹, DETLEV RATH², HOLGER LUBATSCHOWSKI¹ und ALEXANDER HEISTERKAMP¹ — ¹Laser Zentrum Hannover e.V., Hollerithallee 8, 30419 Hannover — ²Bunderforschungsanstalt für Landwirtschaft, Höltystraße 10, 31535 Neustadt

In der Biologie sowie in der Medizin ist es häufig erforderlich, verschiedene Zellarten voneinander zu trennen. Das Sortieren mit Hilfe einer optischen Falle bietet eine schädigungsfreie Alternative zu dem herkömmlichen Verfahren der Durchflusszytometrie, welche durch das benötigte elektrische Feld vorwiegend die Zellmembran schädigt. Daher eignet sich optisches Sortieren besonders gut für sensible Primärzellen.

Die optische Falle in Form eines Linienfokus wurde mittels eines Nd:YAG Lasers (1064nm, cw) und eines optischen Systems basierend auf Zylinderlinsen oder einem SLM generiert. Dieser Linienfokus übt unter einem Winkel von 30° eine Kraft im pN-Bereich aus, so dass Partikel von einigen μm Größe abgelenkt werden können. Durch die Verwendung eines IR-Lasers wird auf Grund der Eigenschaften von biologischem Gewebe lineare Absorption und somit thermische Schädigungen an den Zellen reduziert.

Durch Integration eines Mikrofluidik-Chips soll das Sortierverfahren automatisiert und simultan visuell kontrolliert werden. Durch Variation verschiedener Systemparameter, wie Laserleistung oder Strömungsgeschwindigkeit werden Durchflussrate und Sortiergenauigkeit optimiert.